Directrices provisionales de bioseguridad de laboratorio para el manejo y transporte de muestras asociadas al nuevo coronavirus 2019[1] (2019-nCoV)

28 de enero de 2020

En enero de 2020, el agente etiológico responsable de un grupo de casos de neumonía grave en Wuhan, China, fue identificado como un nuevo betacoronavirus (2019-nCoV), distinto del SARS-CoV y MERS-CoV (1) (2) (3). La secuencia genómica completa de este nuevo agente está disponible y se han desarrollado diferentes protocolos de detección, aunque aún no se han validado por completo. Sin embargo, a la luz de la posible introducción de un caso sospechoso relacionado con el 2019-nCoV en la Región de las Américas, la Organización Panamericana de la Salud / Organización Mundial de la Salud (OPS / OMS) recomienda a los Estados Miembros garantizar su identificación oportuna, el envío de las muestras a laboratorios Nacionales o de referencia y la implementación del protocolo de detección molecular para 2019-nCoV, según la capacidad del laboratorio.

Hasta la fecha, no es completamente claro el potencial patogénico ni la dinámica de transmisión del 2019-nCoV. Por esta razón y a la luz del conocimiento de otros virus similares (MERS-CoV, SARS-CoV), es necesario mantener y fortalecer las medidas de bioseguridad y elementos de protección personal para el trabajo con muestras sospechosas de infección con patógenos respiratorios.

Recomendaciones generales para trabajar con materiales potencialmente infecciosos[2]

Todo el personal del laboratorio debe usar equipo de protección personal (EPP) apropiado que incluya guantes desechables, mascarilla quirúrgica (tapabocas), bata antifluidos y protección para los ojos al momento de manipular muestras potencialmente infecciosas.

En el momento de tomar una muestra respiratoria de un paciente sospechoso en Unidad de Cuidados Intensivos, se debe considerar el uso de mascarilla N95.

Cualquier procedimiento con el potencial de generar aerosoles de partículas finas (por ejemplo, preparación de las muestras con el tubo abierto o agitación con vortex) debe realizarse en una cabina de seguridad biológica (BSC) de clase II. Deben usarse dispositivos de contención física apropiados (por ejemplo, cubetas de seguridad de centrífuga y rotores sellados) para la centrifugación. Idealmente, los rotores para centrifuga deberían cargarse y descargarse dentro de una BSC. Cualquier procedimiento dentro del laboratorio, que genere aerosoles y que se realice fuera de una BSC (o limpieza ante derrames de muestras altamente sospechosas, por ejemplo), debe realizarse utilizando mascarilla N95.

Después de procesar las muestras, descontamine las superficies de trabajo y el equipo utilizado con los desinfectantes apropiados. Para esto, utilizar cualquier desinfectante hospitalario debidamente registrado.

[1] Las recomendaciones planteadas en este documento pueden estar sujetas a modificaciones posteriores en función de los avances en el conocimiento sobre la enfermedad y el agente etiológico.

[2] Estas recomendaciones están basadas en la Guía Provisional para recolección, manejo y procesamiento de muestras clínicas de pacientes bajo investigación por 2019-nCoV.
https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-nCoV/lab/lab-biosafety-guidelines.html

Las recomendaciones del fabricante para el uso/dilución (es decir, concentración), tiempo de contacto y cuidado en el manejo, deberán ser seguidas.

Todo el material desechable debe esterilizarse en autoclave antes de su disposición final.

Recomendaciones específicas para la manipulación de muestras sospechosas de infección con el 2019-nCoV

Se recomienda ***NO*** realizar intentos de aislamiento viral en cultivo celular, para evitar amplificación y concentración de partículas virales.

Los siguientes procedimientos pueden ser realizados en instalaciones de contención BSL-2, utilizando prácticas de trabajo estándar:

- Examen histopatológico y procesamiento de tejidos fijados con formalina o tejidos inactivados;
- Preparación de placas para análisis molecular con ácido nucleico viral ya extraído;
- Estudios de microscopía electrónica con láminas fijadas con glutaraldehído;
- Tinción de rutina y análisis microscópico de frotis fijos.
- Empaque final de muestras para su transporte a laboratorios de diagnóstico para pruebas adicionales;
- Muestras inactivadas (muestras en tampón de extracción para ácidos nucleicos).

Los siguientes procedimientos deben ser realizados dentro de una cabina de bioseguridad clase II:

- Alicuotar y / o diluir muestras;
- Inoculación de medios de cultivo bacterianos o micológicos;
- Realizar pruebas de diagnóstico que no impliquen la propagación de agentes virales *in vitro* o *in vivo* (preparación de láminas para Inmunofluorescencia, por ejemplo).
- Procedimientos de extracción de ácido nucleico con muestras potencialmente infectadas.
- Preparación y fijación química o térmica de frotis para análisis microscópico.

Reglamentación internacional para el transporte seguro de sustancias infecciosas

El empaque, envío y transporte seguro de muestras de casos sospechosos de infección por 2019-nCoV debe seguir la edición actual de las Regulaciones de Mercancías Peligrosas de la Asociación Internacional de Transporte Aéreo (IATA) (4)

Planeación de la logística del envío

- Identificar el nombre y datos de contacto (teléfono y/o e-mail) del referente técnico para el evento en el Laboratorio Nacional de referencia o Centro Nacional de Influenza (NIC por su nombre en inglés) quien debe estar atento hasta que el envío sea recibido, o Laboratorio de Referencia Internacional;
- Notificar al laboratorio (NIC o de Referencia) sobre el envío de la muestra;
- Contactar a la compañía transportadora y verificar los horarios e itinerarios.

Preparación del material para realizar el empaque

El transporte de muestras sospechosas de infección por 2019-nCoV, debe asegurar el uso de un **triple empaque** y cumplir las normas internacionales relativas al transporte aéreo de sustancias infecciosas: sustancias biológicas, **Categoría B**”:

Asegure material absorbente en cantidad suficiente para contener un derrame

Disponga de un contenedor secundario que sea resistente a filtraciones

Contenedor terciario (caja exterior), rígido. Para transporte aéreo utilizar caja P650 (categoría B)



Realización del empaque

1 **Abra el contenedor secundario.** Asegure que tenga el tamaño adecuado para contener las muestras



2 **Ponga en el interior el material absorbente.** Asegure que el material sea suficiente para absorber todo el contenido del contenedor primario en caso de ruptura



3 **Envuelva el contenedor primario con material amortiguador.** Si va a enviar mas de una muestra, cada una debe ir en un contenedor primario independiente



4 **Ponga el contenedor primario dentro del contenedor secundario**



5 **Cierre el contenedor secundario**



Empaque con refrigeración (recomendado)

6 **Ponga el contenedor secundario dentro de la caja de poliestireno-espuma, rodeado por varios bloques fríos (congelados)**



7 **Ponga la caja de poliestireno-espuma, dentro del contenedor terciario (caja exterior)**



8 **Ponga el formato para remisión de muestras y la ficha epidemiológica (ó resumen de la historia clínica) en un sobre**



9 Ponga el sobre con los documentos dentro del contenedor terciario;, por fuera de la caja de poliestireno-espuma para evitar humedad por la refrigeración



10 Cierre bien la parte superior del contenedor exterior

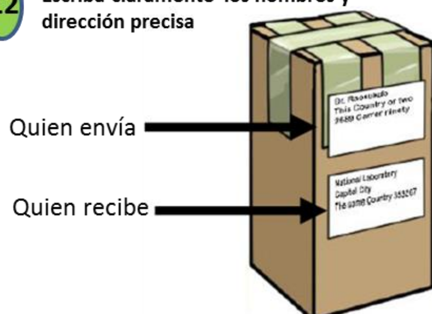


11 Ponga cinta para sellar la caja de forma segura

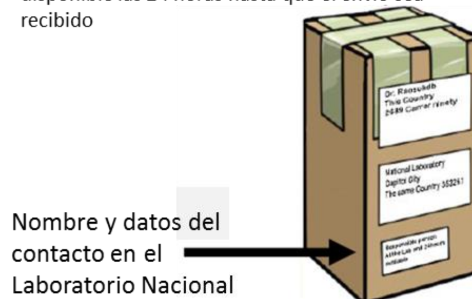


Marcas y etiquetas

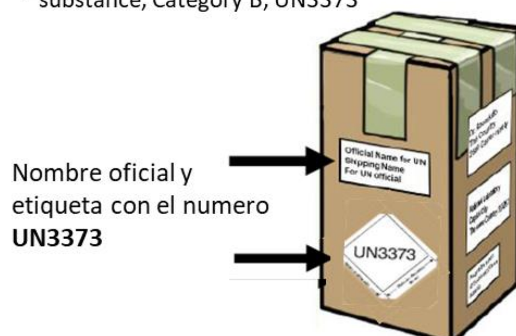
12 Escriba claramente los nombres y dirección precisa



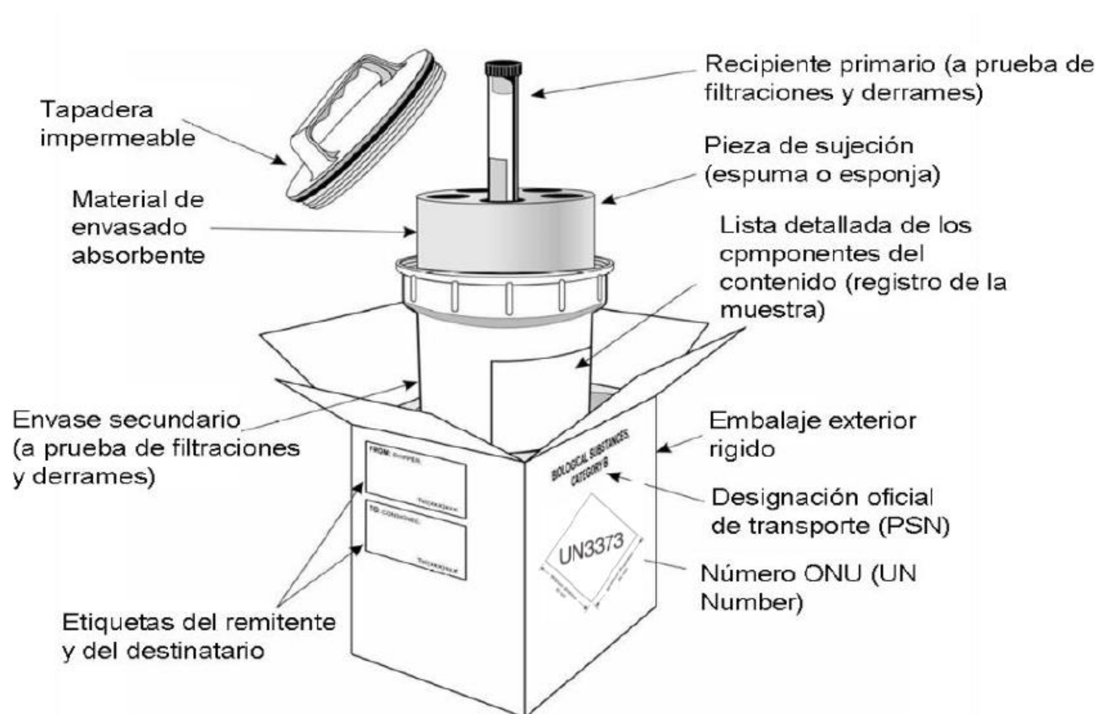
13 **Nombre, teléfono y datos de contacto del referente en el Laboratorio Nacional.** Debe estar disponible las 24 horas hasta que el envío sea recibido



14 **Escriba el nombre oficial y número UN (proper shipping name):** "Biological substance, Category B, UN3373"



Modelo triple empaque obligatorio para envíos aéreos que puede ser utilizados para cumplir con la instrucción P650 relativa a sustancias infecciosas de categoría B.



Documentación que debe acompañar el envío (Sustancias biológicas, Cat. B)

Para el transporte de muestras, es importante que el expedidor prepare la documentación requerida según la normativa aplicable, con el fin de informar a quienes vayan a transportar el paquete (es decir, el transportista, el mensajero o el especialista en logística) sobre la forma en que se preparó el mismo y sobre las mercancías que contiene.

Toda la información proporcionada en los documentos de transporte deberá ser fácil de leer y escrita de forma que no pueda alterarse (por ejemplo, tinta permanente que no se pueda eliminar fácilmente).

- ### Guía aérea

La guía aérea (*Air Waybill*) debe acompañar todos los envíos realizados por via aérea (Cat. A, Cat. B y material exento).

El expedidor o la empresa de transporte estarán encargados de completar la información en la guía.

Modelo de guía aérea para envío de sustancias biológicas Cat. B con hielo seco (recomendado)

Airport of Destination
Requested Flight/Date
Amount of Insurance
INSURANCE – If carrier offers insurance, and such insurance i requested in accordance with the conditions thereof, indicate a to be insured in figures in box marked "Amount of Insurance".
Information
SCI

Gross Weight	kg / lb	Rate Class / Commodity Item No.	Chargeable Weight	Rate / Charge	Total	Nature and Quantity of Goods (incl. Dimensions or Volume)
						1 PACKAGE, BIOLOGICAL SUBSTANCE CATEGORY B, UN3373 DRY ICE, UN1845 3 kg

- ### Permiso de importación

En algunas ocasiones, el laboratorio que recibe la muestra requiere de un permiso para importar el material biológico. Se debe solicitar por anticipado a la institución el respectivo permiso de importación vigente, indicando además los datos de la persona responsable de recibir el paquete.

DEPARTMENT OF HEALTH AND HUMAN SERVICES
PUBLIC HEALTH SERVICE

Centers for Disease Control and Prevention
Office of Health and Safety, MS A-46
Atlanta, Georgia 30333
TEL: 404-718-2077; FAX: 404-718-2093; Email: importpermit@cdc.gov



Permit to Import Infectious Biological Agents, Infectious Substances, and Vectors

In accordance with 42 CFR Section 71.54 of the Public Health Service Foreign Quarantine Regulators, cited on the bottom of this permit, permission is granted the permittee to import into any port under control of the United States, or to receive by transfer within the United States, the material described in item 1 below.

Ejemplo

PHS PERMIT NO.	2016-02-230	
DATES	ISSUED: Friday, February 26, 2016	EXPIRES: Sunday, February 26, 2017
1. DESCRIPTION OF MATERIAL	BLOOD, BLOOD PRODUCTS, OTHER BODY FLUIDS, TISSUES, AND ORGANS FROM HUMANS AND ANIMALS, EXCLCLUDING EMBARGOED MATERIAL, THAT MAY CONTAIN INFLUENZA A VIRUSES (EXCLUDING HIGHLY PATHOGENIC AVIAN INFLUENZA), INFLUENZA B VIRUSES, AND INFLUENZA C VIRUSES. NOT APPROVED FOR RODENT MATERIAL FROM AFRICA AS DESCRIBED IN THE EMBARGO "AFRICAN RODENTS PRAIRIE DOGS AND OTHER ANIMALS THAT MAY CARRY MONKEY POX." AS DESCRIBED IN 42 CFR 71.56. NOT APPROVED FOR AVIAN PRODUCTS FROM SOUTH EAST ASIA AS DESCRIBED IN "NOTICE OF EMBARGO OF BIRDS (CLASS AVES) FROM SPECIFIED SOUTHEAST ASIAN COUNTRIES." WORK WITH CLINICAL SPECIMEN SUSPECTED OF CON[illegible]NING [illegible]UENZA A (H7N9) VIRUSES OR CULTURES OF INFLUENZA ([illegible]N9) VIRUSE[illegible] SHOULD B[illegible] CONDUCTED IN ACCORDANCE WITH THE ATTACHED INTE[illegible] RISK AS[illegible]SSMENT A[illegible] BIOSAFETY LEVEL RECOMMENDATIONS FOR WORKING [illegible]H INFL[illegible]NZA (H7N9[illegible]IRUSES. THIS DOCUMENT IS AN INTERIM GUIDANCE AND IS [illegible]JECT [illegible] CHANG[illegible] FUTURE UPDATES OF THIS DOCUMENT WILL BE POSTED [illegible] WWW.[illegible]OD/EAIPP. THE SUBSEQUENT DISTRIBUTION OF [illegible]NZA A ([illegible]9) VIRUS WILL REQUIRE AN ADDITIONAL SEPARATE PERMIT. NOTE: IDENTIFICATION OF A SEL[illegible] AGENT OR [illegible]OXIN MUST BE REPORTED TO APHIS OR CDC ACCORDING TO 42 CFR PA[illegible]73.	
2. PERMITTEE (NAME, ORGANIZATION, ADDRESS AND CONTACT INFORMATION)	XIYAN XU CENTERS FOR DISEAS[illegible] CONT[illegible] AND PREVENTION (CL[illegible] ROAD) 1600 CLIFTON [illegible] ATLANTA, GA [illegible]329	TEL: 404-639-1657 FAX: 404-639-0080
2a. OTHER AUTHORIZED PERMIT USERS	CHARLES D[illegible] CENTERS FO[illegible]SEASE CO[illegible]OL AND PREVENTION (C[illegible]TON ROAD) 16[illegible]ON RO[illegible] NE [illegible]LANTA[illegible]A 3032[illegible]	TEL: 404-639-1428 FAX:
	[illegible]ACQU[illegible]NE KATZ [illegible]RS FOR [illegible]SEASE CONTROL AND P[illegible]ENTION [illegible]LIFTON ROAD) 160[illegible] ROAD NE ATLAN[illegible], GA 30329	TEL: 404-639-4966 FAX: 404-639-0080
3. SOURCE OF MA[illegible]IAL (NAME, ORGANIZATION, A[illegible]ESS, CO[illegible]RY)	[illegible]ORLDWIDE	
4. TYPE OF PERMIT A[illegible]UCTIONS FOR USE	As [illegible] permittee, your facility will be subject to inspection at some time in the future to confirm that the impo[illegible]s biosafety measures are commensurate with the hazard posed by the items to be imported and th[illegible]evel of risk given its intended use. ☐ Single Importation into the U.S. ☐ Single Transfer Within the U.S. ☒ Multiple Importation into the U.S. ☐ Multiple Transfer Within the U.S. A. Record of each importation shall be maintained on permanent file by permittee. B. Enclosed label(s) must be forwarded to the shipper(s). C. One label shall be affixed to shipping container. Enclosed labels may be photocopied.	

CDC 0728 (F 13.40) REV. 4-13

42 CFR 71.54. Permit to Import Biological Agents, Infections Substances, and Vectors
A person may not import into the United States any infectious biological agent, infectious substance, or vector unless: It is accompanied by a permit issued by the Centers for Disease Control and Prevention (CDC). The possession of a permit issued by the CDC does not satisfy permitting requirements placed on materials by the U.S. Department of Agriculture that may pose hazards to agriculture or agricultural production in addition to hazards to human health.

• Formato de remisión de muestras

Para facilitar la identificación, el análisis y el seguimiento a los casos, es importante proveer al laboratorio de referencia con la información detallada respecto a cada muestra. Existen diferentes formatos que pueden ser utilizados para resumir datos epidemiológicos y clínicos.

Select the Specimen Origin to Begin the Form

SPECIMEN SUBMISSION FORM: SPECIMENS OF HUMAN ORIGIN

Ejemplo

LABORATORY EXAMINATION REQUESTED

Test order name:

Test order code:

Suspected Agent:

Date sent to CDC: MM/DD/YYYY

At CDC, bring to the attention of:

PATIENT INFORMATION

Patient Name: Last / First / MI / Suffix

Birth date: MM/DD/YYYY

Case ID:

Sex:

Age:

Age Units:

Clinical Diagnosis:

Date of onset: MM/DD/YYYY

Pregnancy Status:

Fatal:

Date of Death: MM/DD/YYYY

SPECIMEN INFORMATION

Specimen collected date: MM/DD/YYYY

Time: hh:mm:ss

Material Submitted:

Specimen source (type):

Specimen source modifier:

Specimen source site:

Specimen source site modifier:

Collection method:

Treatment of specimen:

Transport medium/Specimen preservative:

Specimen handling:

STATE PHL / NEW YORK CITY DEPARTMENT OF HEALTH & MENTAL HYGIENE / FEDERAL AGENCY / INTERNATIONAL INSTITUTION / PEACE CORPS

Name: (Laboratory Director or designee) Prefix / Last / First / MI / Suffix / Degree

Institution name:

Street address: Line 1 / Line 2 / City / ZIP Postal Code / State / Country

Fax: Country Code / Area Code / Local Number (e.g. 6390000) / Institutional e-mail

Point of Contact: (Person to be contacted if there is a question regarding this order) Prefix / Last / First / MI / Suffix / Degree

Phone: Country Code / Area Code / Local Number (e.g. 6390000) / POC e-mail

Patient ID:

Alternative Patient ID:

Specimen ID:

Alternative Specimen ID:

ORIGINAL SUBMITTER (Organization that originally submitted specimen for testing)

Name: (Laboratory Director or designee) Prefix / Last / First / MI / Suffix / Degree

Institution name:

Street address: Line 1 / Line 2 / City / ZIP Postal Code / State / Country

Fax: Country Code / Area Code / Local Number (e.g. 6390000) / Institutional e-mail

Point of Contact: (Person to be contacted if there is a question regarding this order)

References

1. **Hui, DSC and Zumla, A.** Severe Acute Respiratory Syndrome - Historical, Epidemiologic; and Clinical Features. [book auth.] HW Boucher, A Zumla and DSC Hui. *Emerging and Re-emerging Infectious Diseases - Clinics Revew Articles* . Philadelphia : Elsevier, 2019, pp. 869-889.

2. **Drosten , C, et al.** Severe acute respiratory syndrome: identification of the etiological agent. *Trends Mol Med.* 2003, Vol. 9, pp. 325-7.

3. **GISAID.** Newly discovered betacoronavirus, Wuhan 2019-2020. *GISAID EpiFlu - Global Initiative on Sharing All Influenza Data.* [Online] January 2020. https://platform.gisaid.org/epi3/frontend#414223.

4. **Organización Mundial de la Salud.** OMS | Guía sobre la reglamentación relativa al transporte de sustancias infecciosas 2019-2020. *Organización Mundial de la Salud.* [Online] January 2019. [Cited: January 28, 2020.] https://www.who.int/ihr/publications/WHO-WHE-CPI-2019.20/es/.